

## Оценка противоопухолевой активности пролонгированной лекарственной формы с 5-фторурацилом на перевивных опухолях

**Хамитова Г.В.**, к. м. н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ГОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» РОСЗДРАВА, г. Казань  
**Зайнуллин Ф.Ш.**, аспирант кафедры хирургии и онкологии с курсами института последипломного образования ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» РОСЗДРАВА, г. Уфа  
**Хуснутдинов Ш.М.**, к. м. н., доцент кафедры хирургии и онкологии с курсами института последипломного образования ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» РОСЗДРАВА, г. Уфа  
**Аюпов Р.Т.**, к. м. н., доцент кафедры хирургии и онкологии с курсами института последипломного образования ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» РОСЗДРАВА, г. Уфа  
**Сулейманов Н.М.**, аспирант кафедры хирургии и онкологии с курсами института последипломного образования ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» РОСЗДРАВА, г. Уфа

### The assessment of anticancer activity of a prolonged drug form with 5-fluorouracil on the transplantable tumors

Hamitova G.V., Zainullin F.S., Husnutdinov S.M., Aiupov R.T., Suleimanov N.M.

#### Резюме

Целью исследования явились оценка влияния пролонгированной лекарственной формы с 5-фторурацилом на перевивные опухоли. Материалы и методы: использованы 20 взрослых 2-3 месячных мышей линии C57Bl/6 разводимой питомника РАМН «Пушино». Использовали штаммы перевиваемых опухолей: меланома B16. Определяли среднюю продолжительность жизни после гибели всех мышей в группах, массу и размеры первичной опухоли. Вычисляли процент торможения роста опухоли и увеличение продолжительности жизни. Изучался морфогенез перевивной опухоли при локальном воздействии пролонгированного химиопрепарата. Результаты: установлено, при введении лекарственной формы (на следующий день после инокуляции), в экспериментальной группе животных наблюдались: торможение роста опухоли на 68%, уменьшение массы опухоли на 50%, увеличение продолжительности жизни на 70%, уменьшение частоты метастазирования на 44%, уменьшение количества метастазов на 50%. При микроскопическом исследовании апоптотный индекс в исследуемой группе почти в 8 раз превышал уровень спонтанной гибели опухолевых клеток в кон-трольной группе. Ко-личественная плотность опухолевых клеток снизилась практически в 1,5 раза, чем в контроле. Количество патоло-гических митозов составляло около 70%. Заключение: таким образом, по результатам экспериментов и морфологических исследований продемонстрирована противоопухолевая активность пролонгированной лекарственной формы с 5-фторурацилом в отношении перевивных опухолей. **Ключевые слова:** 5-фторурацил, пролонгированная лекарственная форма, перевивные опухоли, противоопухолевая активность.

#### Resume

The aim of the research was to assess the influence of a prolonged drug form with 5-fluorouracil on the transplanted tumors. Materials and methods: there were used 20 grown mice of 2-3 months of the line C57Bl/6 raised at the hatchery RAMS «Pushino». They used transplantable tumor strains: melanoma B16. They identified the average lifetime after the death of all the mice in the groups, the mass and the size of the primary tumor. They calculated the percentage of the growth inhibition of the tumor and the increase of lifetime. They studied morphogenesis of the transplantable tumor under the local interaction of the prolonged chemodrug. Results: infusion of the drug (the next day after transplantation), in the experimental group with animals there were observed: the growth inhibition of the tumor reduced by 68 %, the decrease of tumor by 50%, increase of lifetime by 70 %, the reduction of the metastatic disease by 44%. During the microscopy the apoptosis index in the experimental group exceeded the spontaneous death rate of the tumor cells 8 times in comparison with a control group. The quantitative density of tumor cells reduced nearly by half than in a control group. The quantity of pathologic mitosis made up nearly 70%. Conclusion: so, the anticancer activity of a prolonged drug form with 5-fluorouracil on the transplantable tumours was revealed on the basis of the results of experiments and morphological research.

**Key words:** 5-fluorouracil, prolonged dosage form, transplantable tumors, anticancer activity.

## Введение

Несмотря на существование в клинической практике огромного количества противоопухолевых препаратов, эффективность большинства из них недостаточна. Остается актуальным вопрос о создании новых эффективных химиопрепаратов. Для эффективности химиотерапии, необходимо добиться постоянного присутствия цитостатика в опухоли. Это достигается за счет системной химиотерапии. При системной химиотерапии наносится значительный ущерб здоровым тканям и клеткам, отмечается общетоксический эффект, имеется необходимость повторных курсов химиотерапии. С точки зрения создания высокой концентрации цитостатиков в опухоли альтернативой можно рассматривать локальную химиотерапию. Использование локальной химиотерапии делает возможным создание высоких доз противоопухолевого препарата в очаге поражения при низкой концентрации противоопухолевого препарата в общем кровотоке. Повышение эффекта локальной химиотерапии может быть достигнуто за счет создания депо цитостатика, что исключает необходимость повторных курсов лекарственной терапии. Цель исследования – оценить влияние пролонгированной лекарственной формы с 5-фторурацилом на персистирующие опухоли, изучить морфогенез персистирующей опухоли при локальном воздействии пролонгированного химиопрепарата.

## Материалы и методы

Нами использована лекарственная форма, содержащая 5-фторурацил с инъекционным пролонгированным растворителем. При исследовании лекарственной формы, проведенных ранее в экспериментах *in vitro*, *in vivo*, наблюдалось равномерное высвобождение 5-фторурацила в течение 4-х недель. На следующем этапе исследования нами изучено влияние препарата на персистирующие опухоли. Использованы 20 взрослых 2-3 месячных мышей линии C57Bl/6 разведения питомника РАМН «Пушино». Мыши содержались в виварии в соответствии с правилами Этического Комитета РАМН. Животные получали стандартный гранулированный корм (Чара) и имели свободный доступ к воде. Наблюдение за животными велось ежедневно, при этом оценивали: активность питания, питья, чистки (груминг), состояние шерстного покрова, двигательную активность, массу тела. Использовали штаммы персистирующих опухолей: меланома B16. Штаммы хранились в жидком азоте при  $t = -196^{\circ}\text{C}$ . После размораживания опухоли поддерживали в сингенных условиях на мышах линии B6 подкожными пассажами каждые 2 недели. День инокуляции опухолевых клеток при-

нимали за 0. Определяли среднюю продолжительность жизни (СПЖ) после гибели всех мышей в группах, массу и размеры первичной опухоли. Объем опухоли вычисляли по формуле  $V_{\text{ср}}(\text{см}^3) = a \times b \times c$  в различные сроки после окончания лечения. Вычисляли процент торможения роста опухоли (ТРО%) по формуле

$$\text{ТРО}\% = \frac{V_0 - V_k}{V_k} \times 100.$$

где  $V_0$  и  $V_k$  величина  $V_{\text{ср}}$  в опыте и в контроле.

Также определяли увеличение продолжительности жизни (УПЖ%)

$$\text{УПЖ}\% = \frac{\text{СПЖ}_0 - \text{СПЖ}_k}{\text{СПЖ}_k} \times 100$$

где СПЖ<sub>0</sub> и СПЖ<sub>к</sub> — СПЖ в опыте и в контроле.

Изучался морфогенез первичной опухоли при локальном воздействии пролонгированного химиопрепарата. Опыты проведены на 20 трансгенных мышах линии C57Bl/6, которым имплантировали персистирующую опухоль - меланома B16. Экспериментальные животные распределены на 2 группы (по 10 особей): первая группа – контрольная (группа «без лечения»), мышам второй группы вводили пролонгированную лекарственную форму, содержащую 5-фторурацил на 1 сутки после имплантации меланомы B16. Девиализацию мышей проводили на 14 суток. Полученный материал направлялся на патоморфологическое исследование. Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ, с применением оценки средней арифметической вариационного ряда (M), средней ошибки, средней арифметической (m) как меры изменчивости выборочного значения M. Оценка их статистической достоверности проводилась методом вариационной статистики с применением t критерия Стьюдента. Достоверным считали различие между данными по основной группе и группе сравнения с уровнем доверительной вероятности 95% и выше.

## Результаты и обсуждение

Влияние лекарственной формы на персистирующие опухоли оценивали в двух опытах, условия постановок которых различались. В первом опыте самкам мышей линии B6, были привиты под кожу правого бока по 0,2 мл 20% взвеси клеток меланомы B16 в сутки 0. Мыши были разбиты на 2 группы (по 5 особей): контрольная группа (группа «без лечения»), мышам второй группы вводили по 1 мл нагретой до  $t=50^{\circ}\text{C}$  лекарственной формы на 7 сутки, под кожу левого бока. В этом опыте наблюдался интенсивный рост опухоли у всех мышей. Торможения роста опухоли в экспериментальной группе к 20 суткам не наблюдалось, также не наблюдалось увеличения продолжительности жизни.

Условия следующего опыта отличались от предыдущего тем, что мышам (по 5 особей, основная и контрольная группы) вводилась лекарственная форма на следующий день после инокуляции, т.е. в 1-й день. Меланома B16 в экспериментальной группе росла на использован-

Ответственный за ведение переписки -

Зайнуллин Феликс Шамильевич,

г.Уфа, 450000, ул.Ленина, 3,

Башкирский государственный

медицинский университет,

кафедра хирургии и онкологии с курсами института

последипломного образования

Эл. адрес: FSZU@mail.ru

ных в этом опыте мышцах значительно хуже, чем в опыте 1. С ростом опухоли в контрольной группе наблюдалось уменьшение двигательной активности, чистки (груминга). В этой экспериментальной группе наблюдалось: торможение роста опухоли на 68%, уменьшение массы опухоли на 50%, увеличение продолжительности жизни на 70%, уменьшение частоты метастазирования на 44%, уменьшение количества метастазов на 50%.

При микроскопическом исследовании опухолевая ткань, как в контрольной группе, так и в группе животных, получавших химиотерапию, была окружена соединительнотканной капсулой с гранулематозным валом с небольшим количеством полиморфноядерных лейкоцитов. Местами слой грануляций достигал ширины 300 мкм. Эпидермис над опухолью был резко истонченным. В опухолях экспериментальных животных, подвергшихся воздействию химиотерапии, определялся довольно выраженный лечебный патоморфоз клеток. По сравнению с контролем наблюдался более выраженный отек паренхимы. После введения лекарственной формы препарата нарастала дистрофия опухолевых клеток. Многие клетки содержали гиперхромные ядра. Появлялись клетки с микроядрами, усиливался внутриклеточный отек. Количественная плотность опухолевых клеток снизилась практически в 1,5 раза, чем в контроле.

Большинство ядер опухолевых клеток были увеличены в размерах, ядрышки гипертрофированы. Реже встречались клетки с конденсированным хроматином и появлялись клетки с расщепленным хромосомом. Также наблюдались мосты, многополосные и асимметричные митозы. Количество патологических митозов составляло около 70%. Как известно, что такие формы патологических митозов, как правило, являются летальными для клетки и приводят ее к гибели.

Наблюдались обширные участки с очагами некробиоза. Обширные участки некробиоза, переходящие местами в некроз, наблюдались и в периферической зоне опухоли. В опухолях животных отмечали тяжиз из некротизированных клеток, которые простирались в по-

верхностные отделы опухолевой ткани, образуя обширные массивы. В центре опухоли наблюдалась преимущественно субтотальный некроз. Некрозы в некоторых случаях занимали около 75% всей площади срезов. Вокруг зоны введения препарата определялся четкий некротический вал, ограниченный плазматическими клетками. Вокруг опухоли формировался выраженный гранулематозный вал и вал из отечной нежной соединительной ткани. В зоне распада опухолевые клетки были перемешаны с воспалительным инфильтратом. В некоторых участках наблюдалось очаговое разрастание соединительной ткани. Между некротическими участками присутствовали скопления клеток с активной пролиферацией. Количество апоптотных клеток увеличилось. Апоптотный индекс почти в 8 раз превышал уровень спонтанной гибели опухолевых клеток в контрольной группе. В паренхиме появлялось значительное количество клеток в ранней стадии апоптоза. В периферической зоне индекс апоптоза достигал 2,5%. Таким образом, по результатам экспериментов и морфологических исследований продемонстрирована противоопухолевая активность пролонгированной лекарственной формы с 5-фторурацилом в отношении персистирующих опухолей.

## Выводы

1. Пролонгированная лекарственная форма, содержащая 5-фторурацил, имеет высокую противоопухолевую активность в эксперименте *in vivo* только при условии раннего начала лечения. При введении лекарственной формы на следующий день после инокуляции клеток меланомы В16 у трансгенных мышей линии С57/В16 наблюдалось торможение роста опухоли на 68%, уменьшение массы опухоли на 50%, увеличение продолжительности жизни на 70%, уменьшение частоты метастазирования на 44%, уменьшение количества метастазов на 50%.

2. При морфологических исследованиях противоопухолевое действие пролонгированной лекарственной формы с 5-ФУ характеризуется ингибирующей активностью в отношении клеток меланомы В-16. ■

## Литература:

1. Ляходед В.А., Ручьев В.Н., Наумова Н.В. и соавт. О возможности использования высокомолекулярных соединений в технологии парентеральных пролонгированных лекарственных форм. Материалы II научной сессии ассоциации онкологов Башкортостана. Уфа; 2007. 98-99.
2. Трещальни Е.М. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. М.: Медицина; 2003.
3. Софьяна З.П., ред. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. М.: Медицина; 1980.